

ЧАСТЬ 3. ЭКОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И ГРИБОВ

АКТИВАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ГЕНОВ КАК АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ *ESCHERICHIA COLI* НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

А. В. АХОВА

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

E-mail: akhovan@mail.ru

Предполагается, что неблагоприятное внешнее воздействие любой природы на бактериальные клетки сопровождается развитием в них эндогенного окислительного стресса [3]. Одним из признаков окислительного стресса является индукция генов оксидантной защиты, объединенных в регулоны. Основными регулонами оксидантной защиты *E. coli* являются *oxyR*-регулон (ген *katG*), реагирующий на увеличение внутриклеточной концентрации перекиси водорода, и *soxRS*-регулон (ген *soxS*), экспрессия которого возрастает при изменении окислительно-восстановительных условий в клетке [1, 2].

Целью настоящей работы является исследование экспрессии генов *soxS* и *oxyR* в бактериальных клетках, подвергнутых действию различных стрессовых факторов.

Методы. Клетки *E. coli* выращивали на LB-бульоне без перемешивания при 37 °С. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) определяли высевом на LB-агар. Уровень экспрессии генов оценивали по активности бета-галактозидазы в клетках, несущих слияние промотора соответствующего гена со структурной частью гена *lacZ*, кодирующего бета-галактозидазу [4].

Результаты. Было проведено исследование экспрессии генов *soxS* и *katG* в клетках *E. coli*, подвергнутых действию осмотического стресса (добавка хлорида натрия в концентрации 30–200 мг/мл), кислотного стресса (добавка уксусной кислоты в концентрации 0,125–2 мг/мл), теплового стресса (нагревание с 37 °С до 42–60 °С) и фторхинолоновых (левофлоксацин в концентрации 0,005–0,1 мкг/мл) и бета-лактамов (цефотаксим в концентрации 0,05–1,0 мкг/мл) антибиотиков. Сила стрессовых воздействий варьировала от субингибиторного (количество КОЕ не снижалось на протяжении 6 часов наблюдения) до сублетального (количество КОЕ снижалось с 10^8 /мл до 10^7 – 10^2 /мл) и летального действия (за исключением осмотического стресса). Субингибиторное действие всех стрессов, за исключением кислотного, не оказывало влияния на экспрессию антиоксидантных генов. Летальное действие всех стрессов приводило к снижению экспрессии генов по сравнению с культурой в контрольных условиях. При сублетальном действии кислотного и осмотического стрессов наблюдалась двупиковость кривой экспрессии гена *soxS*: первое повышение экспрессии происходило через 15–30 минут после начала стрессового воздействия, после чего наблюдалось снижение уровня экспрессии, который затем вновь увеличивался и оставался выше контрольного уровня на протяжении всего времени наблюдения. Увеличение экспрессии *katG* было зарегистрировано в ответ на осмотический стресс и действие антибиотиков. В условиях воздействия на клетки антибиотиков экспрессия генов

равномерно возрастала на протяжении всего эксперимента и была выше по сравнению с другими видами стресса.

Заключение. В ответ на такие неблагоприятные внешние воздействия, как осмотический, кислотный и тепловой шоки, а также действие антибиотиков, в клетках *E. coli* происходит увеличение экспрессии генов оксидантной защиты, что свидетельствует о развитии эндогенного окислительного стресса.

Работа поддержана молодежным грантом УрО РАН (№ 14-4-ИП-29), программой Президиума РАН «МКБ» (№ 12-П-4-1047).

Литература

1. Aslund F., Zheng M., Beckwith J. & Storz G. Regulation of the OxyR transcription factor by hydrogen peroxide and the cellular thiol-disulfide status // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 6161–6165.
2. Ding H. & Dimple B. In vivo kinetics of a redox-regulated transcriptional switch // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 8445–8449.
3. Dodd C., Richards P. & Aldsworth T. Suicide through stress: a bacterial response to sub-lethal injury in the food environment // Int. J. Food. Microbiol. 2007. Vol. 120. P. 46–50.
4. Miller J. H. Experiments in Molecular Genetics. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992.

INCREASE IN EXPRESSION OF ANTIOXIDANT GENES IN *ESCHERICHIA COLI* IN RESPONSE TO THE STRESS CONDITIONS

A. V. АКНОВА

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm

Summary. An increase of expression of *soxS* and *katG* genes of an oxidative defense was shown in response to osmotic shift, acidic shock and antibiotic treatment. The induction of the antioxidant genes indicates the development of an endogenous oxidative stress in bacterial cells under these environmental stress conditions.

ТРАНСФОРМИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ РОДОКОККОВ В ОТНОШЕНИИ ХОЛЕСТАНОЛА

Г. А. Бажутин¹, Е. М. Ноговицина²

¹ *Пермский государственный национальный исследовательский университет*

E-mail: sniffedbybadger@gmail.ru

² *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь*

E-mail: nogov@iegm.ru

Природные стеролы (холестерол, β -ситостерол, в частности), характеризующиеся наличием 3 β -гидроксильной группы и двойной связи при C-5, эффективно трансформируются бактериями с образованием физиологически активных соединений стероидной структуры [4, 8]. Способность бактерий к модификации стеролов с насыщенным углеродным остовом (производных холестерина) практически не изучена. Описаны лишь отдельные примеры биотрансформации 3 β -гидрокси-5,6 α -циклопропано-5 α -холестана, 3 β -гидрокси-5,6 β -циклопропано-5 β -холестана, 2 α ,3 α -дигидрокси-5-холестан-6-она актинобактериями рода *Mycobacterium* с образованием андростановых соединений [11, 12]. Необходимо отметить, что многие производные насыщенных стеролов обладают выраженной гормональной, противоопухолевой и антиангиогенной активностью [5, 7, 9]. Перспективным представляется исследование процесса биотрансформации соединений с холестановым скелетом для получения новых фармацевтически значимых продуктов.